

Az időközben kiadott EüM. rendelet megtiltja a CE engedéllyel nem rendelkező termékek klinikai vizsgálatát, ezért a klinikai vizsgálatok folytatását felfüggesztettük és azokat ebben az évben – az OTKA iroda előzetes hozzájárulása után– a CE engedély megszerzéséhez szükséges vizsgálatokkal folytattuk.

Az elért eredmények rövid ismertetése:

1. Vizsgálatok az implantációt követő helyi hatásokra. ISO 10993-6 1994

A műtét során a malacok ill. nyulak hasfalán, a középvonal mindkét oldalán 3 db 2x3 cm nagyságú defektust vágunk, melyeket a jobb oldalon rendre az általunk fejlesztett szilikonnal fedett polipropilén hálóval, míg a baloldalon a kontrollként választott, Premilene[®] hálóval zártuk.

A hálókat - az előírás szerint - a beültetéstől számított 2, 4, 12, 26, 52, 78 hét múlva vizsgáltuk. Makroszkópos megfigyelésként elmondhatjuk, hogy a szilikon fedés valóban hatékony adhézió gátló barrier: három esetet kivéve, nem tapasztaltunk kitapadást és környezeti gyulladásos reakciót. A baloldalon kontrollként választott Premilene[®] (tisztán polipropilén háló) esetében valamennyi esetben találtunk több-kevesebb összenövést. Az eltávolított minták szövettani feldolgozásra is kerültek, s a mikroszkópos leletek megegyeztek makroszkópos eredményeinkkel.

2. A szilikonnal fedett polipropilén háló in vitro citotoxicitási teszt megindítása, a hatáság által ajánlott sejtvonalon. ISO 10993-5 1992

n=9x3 sejtenyészet

A tesztek előírják a tenyésztett sejtek közvetlen inkubálását magával az eszközzel. Mi az ISO szabványban előírányzott sejtvonalak közül a CCL 171 (MRC-5)-s fibroblaszt sejtenyészetet választottuk és az ajánlott MCDB 105-s médiumban folytattuk a sejtek inkubálását. Pozitív kontrollnak a konvencionális, fedőanyag-mentes polipropilén hálót, míg negatív kontrollnak natív sejtenyészetet választottunk.

Az elvégzett vizsgálataink során a sejtenyészetek 37 °C-on történő inkubálást követően MTT-redukciós tesztel, kvantitatív immunhisztokémiai eljárásokkal vizsgáltuk a fibroblasztok hálóra történő ránövését. A fibroblasztok a negatív kontrollhoz képest csak részben tapadtak a petricsésze aljára, ill. a csésze alján rögzített szilikon fedett polipropilén hálóhoz.

3. Vérrrel való kölcsönhatás vizsgálata. ISO 10993-10 1995

n=9x8 minta

A szilikonnal fedett és nem fedett polipropilén hálók hemolízisre gyakorolt hatását vizsgáltuk in vitro, mosott humán eritrocitákon. A szilikonnal fedett illetve nem fedett standard méretű háló darabokat 37 °C-on inkubáltuk 1, 2, 4 és 8 órán keresztül. Centrifugálás után a felülúszó 20 µl-éhez 5 ml Drabkin reagenst adtunk. A minták abszorbanciáját 540 nm-en fotometriásan mértük. (Hemoglobin kit, Diagnosztikum Zrt). A szilikonnal fedett és nem fedett hálót tartalmazó minták abszorbanciájában szignifikáns különbséget nem találtunk.

4. VEGF és Ki-67 antitesttel végzett immunhisztológiai vizsgálatok

n=9x6 metszet

A szilikonnal fedett hálókat az előírásnak megfelelően, a nyúlakból in toto eltávolítottuk. A formalinban fixált mintákból paraffinos beágyazást követően, 3µm vastagságú metszeteket készítettünk. EDTA, ill. citrát pufferes előkezelést követően VEGF (JH 121) és Ki-67 (B 56) egér monoklonális antitesteket használtunk, majd Haematoxylines magfestést követően fedtük a metszeteket.

Valamennyi mintában jól detektálható a háló filamentumai körül kialakuló idegentest típusú, óriássejtes reakció. Az 1 hetes mintákban a reaktív sejtek VEGF immunjelölődése gyengébb, mint a 3 hetesekben, ugyanakkor proliferációs aktivitásukban eltérés nem észlelhető (Ki-67 index).